Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Philipps-Universität Marburg
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med. R. Hilgermann

Versuche zur Standardisierung der Bestimmung von Blei in biologischem Material unter besonderer Beachtung der Bestimmung durch Titration mit Dithizon sowie der Bestimmung durch eine fotometrische Dithizon-Methode

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Helmut Gröppel
aus Peckelsheim

Marburg 1977

1978

Fotodruck Symon und Wagner OHG · 3550 Marburg · Biegenstraße 5

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Philipps-Universität Marburg
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med. R. Hilgermann

Versuche zur Standardisierung der Bestimmung von Blei in biologischem Material unter besonderer Beachtung der Bestimmung durch Titration mit Dithizon sowie der Bestimmung durch eine fotometrische Dithizon-Methode

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Helmut Gröppel
aus Peckelsheim

Marburg 1977

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 5.5.1978

gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. F. Neurath

Referent: Prof. Dr. med. R. Hilgermann

Correferent: Prof. Dr. med. dent. H. Bernhardt

Inhaltsverzeichnis

		Seite
A	Einleitung und Fragestellung	5
B	Bleibestimmung durch zweifache extraktive Titration mit Dithizon (KAMM)	10
	1. Veraschung	10
	a Reagentien	10
	b Geräte	10
	c Arbeitsgang	11
	2. Quantitative Analyse	13
	a Erläuterung und Schema der Methode	13
	b Reagentien mit Herstellungsvorschriften	16
	c Geräte	19
	d Arbeitsgang	19
	e Titerkontrolle der Dithizonlösung	20
C	Bleibestimmung durch fotometrische Dithizon-Methode (ENSSLIN und DREYER)	21
	1. Veraschung	21
	a Reagentien	21
	b Geräte	21
	c Arbeitsgang	22
	2. Quantitative Analyse	23
	a Erläuterung und Schema der Methode	23
	b Reagentien mit Herstellungsvorschriften	25
	c Geräte	26
	d Arbeitsgang	27
D	Vorbereitende Maßnahmen	30
E	Eichkurven	31

Seite

F Herstellen der bleihaltigen Blutproben 36

G Hauptversuche 37

H Statistische Auswertung 40

I Diskussion 41

J Zusammenfassung 43

K Literaturverzeichnis 44

A Einleitung und Fragestellung

In den letzten Jahren verstärkten sich die Diskussionen über die Wirkung des heute nahezu ubiquitär vorhandenen Bleies und seiner Verbindungen auf den menschlichen Organismus. Die durch die Umweltforschung mehr in den Blickpunkt gerückte Bleibelastung der Umwelt vornehmlich aus den Auspuffgasen der Verbrennungsmotoren hat auch das allgemeine Interesse in der Bevölkerung an der schleichenden Bleiintoxikation geweckt.

Als ein typischer Inhibitor SH-haltiger Enzyme hemmt Blei zahlreiche anabolische Prozesse, wie die Biosynthese des Hämoglobins, der Nukleinsäuren, der Proteine und einiger Hormone. Auch wirkt es störend auf den Elektrolythaushalt (LEHNERT 1968). Diese Eingriffe in den Stoffwechsel können chemisch-analytisch diagnostiziert werden wie z.B. durch den Nachweis von Delta-Aminolävulinsäure, Koproporphyrin und Porphobilinogen im Harn sowie Delta-Aminolävulinsäure-Dehydratase im Blut (HAAS et al., KETTNER et al., LIN FU, SCHMIDT et al., SCHMIDT und STICH 1974, Zit. nach: Med. J. Aust. 1974). Schädigungen der Hämatopoese können an Änderungen des Hämoglobingehaltes des Blutes und des Hämatokrits abgelesen werden (KOBAYASHI et al.). Die Bleivergiftung manifestiert sich klinisch, sichtbar an typischen Frühsymptomen wie Kopfschmerzen, Schlaflosigkeit, Obstipation und Inappetenz. Anämie, Nephropathie und neurologische Störungen treten erst später als Zeichen einer Schädigung auf (SCHMIDT et al. 1972). Auch wird von verschiedenen Autoren ein Zusammenhang zwischen Intelligenz und Bleibela-

stung diskutiert (BEATTIE et al., Zit. nach: Br. Med. J. 1974, GIBSON et al., HOWER et al., ZARKOVSKY).

Ein Zusammenhang zwischen Bleieinwirkung und auftretenden Berufserkrankungen konnte schon länger beobachtet werden durch die laufende Kontrólle der Blut- und Urinbleispiegel beruflich besonders bleiexponierter Personenkreise. Dazu zählten besonders Anstreicher (Verarbeitung von bleihaltigen Farben), Arbeiter in Akkumulatorenfabriken, Schriftsetzer, Verkehrspolizisten und bleiverarbeitende Berufe.

So wurde die Erforschung der Bleivergiftung zu einem wichtigen Thema, zumal sich herausstellte, daß der Blutbleispiegel in enger Beziehung steht zur atmosphärischen Bleikonzentration (GOLDSMITH), und diese in Großstädten zunimmt (HAAS et al.). Normalerweise werden hier 1 bis 3 µg Blei / m^3 Luft gemessen. In Ballungszentren kann der Luftbleigehalt während der Verkehrsspitzenzeiten bis zu 50 µg / m^3 Luft betragen (BEATTIE et al., LEHNERT et al. 1969). Als Ursache dafür werden in erster Linie die Autoabgase von hochverdichteten Otto-Motoren angesehen (LEHNERT 1968). Die Bundesregierung erließ im Hinblick auf die stark ansteigende allgemeine Bleibelastung durch Auspuffgase das neue Benzinbleigesetz, das am 1. 1. 1976 in Kraft trat und die zulässige Höchstmenge Blei von bisher 0,4 Gramm Blei auf nunmehr 0,15 Gramm Blei pro Liter Kraftstoff reduzierte. Auch weiterhin wird Blei dem Benzin als Antiklopfmittel in Form von Bleitetraäthyl und -tetramethyl zugesetzt und gelangt nach Verbrennung im Motor als Schwebstoff in die Umwelt. Hierbei beträgt die in die Luft ausgepuffte Bleimenge 52 bis 80 % des im Benzin enthaltenen Bleies (HAAS et al., JECKLIN).

Neben den Autoabgasen spielt die Emission durch Industrieanlagen eine wesentliche Rolle für die Umweltbelastung mit Blei (KLOKE 1973, STOMPFE). Die in der Atmosphäre suspendierten Bleipartikel führen sekundär zu einer Kontamination des Bodens und der Vegetation und verursachen eine Erhöhung der Bleigehalte der Futter- und Nahrungsmittel (BEATTIE et al., DILLON et al., HAAS et al., KETTNER et al., LEHNERT et al., 1969).

Auch der hohe Bleigehalt einiger Malerfarben (Pigmente) stellt eine mögliche Gefahr dar, der besonders Kleinkinder durch ihre "Hand zu Mund - Aktivität" ausgesetzt sind (HAAS et al., LIN FU, THE MEDICAL JOURNAL OF AUSTRALIA 1974).

Es besteht also eine beträchtliche Belastung der Umwelt mit Blei, das entweder unmittelbar (enteral oder pulmonal) oder nach dem Umweg über Tier und Pflanze vom Menschen enteral aufgenommen wird (KLOKE, LEHNERT et al. 1968). Nach HAAS, SCHALLER und VALENTIN betragen pulmonale und enterale Bleibelastungen des Menschen 540 µg / Tag. Dieser Wert deckt sich mit von LEHNERT gemachten Beobachtungen. KEHOE beziffert die täglich mit der Nahrung zugeführte Bleimenge auf 330 µg, bei einem enteralen Resorptionsfaktor von 5 - 10 % (HAAS et al.), während LEHNERT die inhalative Bleibelastung mit 30 - 44 µg / Tag bei einer mittleren atmosphärischen Pb-II-Konzentration von 2 µg / m^3 veranschlagt. Der pulmonale Resorptionsfaktor beträgt 30 - 50 %. Nach BORNEFF ist mit Sicherheit bei einer Belastung von 1 mg Blei mit einer Bleivergiftung zu rechnen. Es bedarf also bei einer starken Umweltbelastung mit Blei bei einer zusätzlichen beruflichen Exposition nur noch geringer Bleiwerte am Arbeitsplatz, damit es zu einer allgemeinen Bleiintoxikation kommt.

So ist es verständlich, daß in der Bundesrepublik Deutschland im Jahre 1974 388 Bleivergiftungen gemeldet wurden (UNFALLVERHÜTUNGSBERICHT BONN 1976).

Für die Abklärung einer Bleivergiftung dient die Bestimmung des Blutbleispiegels, besonders im arbeitsmedizinischen bzw. forensischen Bereich. Außerdem besteht die Möglichkeit der Bestimmung der Delta-Aminolävulinsäure-Dehydratase im Blut sowie von Koproporphyrin, Porphobilinogen bzw. Delta-Aminolävulinsäure im Harn (LEHNERT et al. 1968, REIF et al.). Dabei wird im allgemeinen bei einer Gefährdungsbreite von 40 - 80 µg / 100 ml Blut eine bei 80 µg / 100 ml Blut beginnende Bleiintoxikation angegeben (LANE et al., SCHMIDT et al., Zit. nach: Med. J. Aust. 1974).

Für eine Blutblei-Analyse kommen heute zwei gebräuchliche verschiedene Prinzipien in Frage:

1. eine spektrometrische Bestimmung durch Atomabsorption,
2. eine Bestimmung mit Dithizon.

Bei der spektrometrischen Bestimmung durch Atomabsorption werden zwar Zeit und Reagentien gespart, jedoch bedingt diese Methode einen erheblichen apparativen Aufwand, der besonders für kleinere Laboratorien unerschwinglich ist.

In dieser Arbeit sollen zwei gängige Bestimmungsmethoden miteinander verglichen werden, die mit Dithizon durchgeführt werden:

1. Die Bestimmung durch extraktive Titration mit Dithizon (KAMM),
2. Die Bestimmung durch die fotometrische Dithizon-Methode (ENSSLIN und DREYER).

Die Praktikabilität und Zuverlässigkeit der beiden Methoden

soll verglichen werden. Für beide Verfahren werden Eichkurven und dann je zwanzig Beleganalysen angefertigt und die dabei gewonnenen Erkenntnisse und Ergebnisse im Hinblick auf Schnelligkeit, apparativen Aufwand, Reproduzierbarkeit und Spezifität verglichen.

B Bleibestimmung durch zweifache extraktive Titration mit Dithizon (KAMM)

1. Veraschung

Wegen der zu erwartenden geringen Bleikonzentration im organischen Untersuchungsgut ist eine direkte Bestimmung von Blei in natürlichem Material (Blut, Urin, Knochen) nicht möglich. Bleibestimmungen im Plasma oder Serum zur Diagnose von Intoxikationen sind unbrauchbar, da das im Blut enthaltene Blei zum größten Teil am Erythrozyten fixiert ist. Dabei ist das Verhältnis von Erythrozyten-Blei zum Plasma-Blei variabel. Bei den Blutuntersuchungen ist also stets auf Vollblut zurückzugreifen. Vor der quantitativen Analyse ist es nötig, die organische Substanz der Probe zu zerstören, um das eventuell vorhandene Blei im mineralischen Rückstand anzureichern. Dies geschieht hier durch nasse Veraschung.

1.a Reagentien

HNO_3, konz. (d = 1,40) p. a.

$HClO_4$, konz. (d = 1,67) p. a.

H_2O (bidestilliert)

1.b Geräte

Quarz-Kjeldahlkolben, Langhals (200 mm), 100 ml Fassungsvermögen

Elektroheizschalen mit mehrstufiger oder besser thermostatisch regelbarer Heizung[1)]

1) Kjeldahlkolben und Heizschalen sollten gut zueinander passen,

um einen guten Wärmeübergang zu erzielen. Außerdem wird eine gleichmäßige Erhitzung des Kolbeninhaltes gewährleistet.

1.c Arbeitsgang

In den Kjeldahlkolben werden zunächst 10 - 15 g Blut eingewogen[1)], mit einer gleichen Menge bidestilliertem Wasser verrührt und mit 10 ml HNO_3 versetzt[2)]. Nach Zugabe von 1 ml $HClO_4$ wird langsam bis zum Sieden erhitzt[3)]. Der Kolbeninhalt wird durch die Einwirkung des heißen oxidierenden Säuregemisches verflüssigt und allmählich heller. Ein Dunklerwerden des Reaktionsgemisches zeigt beginnende Verkohlung an, die durch Zugabe von 1 - 3 ml HNO_3 als Oxydans verhindert wird, bis schließlich eine weiße bis gelbliche Kruste nach Abrauchen der überschüssigen Säuren als Rückstand verbleibt. Alles in der Probe enthaltene Blei liegt nun neben anderen anorganischen Stoffen in löslicher Form vor.

1) Während im Versuch eine Direktwägung vorgenommen wird, um konstante, festgelegte Probenmengen zu erhalten, empfiehlt es sich, zu analysierendes klinisches Material einer Differenzwägung zu unterziehen. Dabei wird das im Laboratorium eintreffende Gefäß zunächst mitsamt dem Probeninhalt und dann, nach Umfüllen in den Quarz-Kjeldahlkolben, als Leergut gewogen. Mit der zu ermittelnden Differenz ist das Gewicht des zu analysierenden Materials gegeben. Bei einer ausreichenden Probenmenge ist es angezeigt, zur Sicherung des Ergebnisses das Untersuchungsgut mit zwei Differenzwägungen zu teilen und zwei parallel laufende Analysen durchzuführen. Die Differenzwägung bietet bei der Blei-Spurenanalyse die größte Sicherheit vor einer Kontamination des Probenmaterials mit Blei während oder nach

der Wägung.

2) Es hat sich herausgestellt, daß sich durch ein- bis zweistündiges Stehenlassen des Gemisches eine reibungslosere Veraschung ergibt. Der Zeitgewinn beläuft sich auf etwa 15 Minuten. Eine weitere wesentliche Beschleunigung des Veraschungsvorganges (etwa 30 Minuten bei einer Einwaage von 10 g Probenmaterial) ist zu erzielen durch Absaugen der Säurenebel mit Hilfe eines winkligen Glasrohres, das tief in den Kolbenhals hineinreicht. Es ist allerdings bei starkem Sieden oder Aufschäumen des Kolbeninhaltes unbedingt darauf zu achten, daß es nicht zum Absaugen der flüssigen Phase kommt.

3) Ein zu schnelles Aufheizen des Kolbeninhaltes ist unbedingt zu vermeiden, da es sonst durch die Anwesenheit der Perchlorsäure zu explosionsartig ablaufenden Reaktionen kommt. (Es hat sich allerdings gezeigt, daß es bei Verwendung der beschriebenen Quarz-Kjeldahlkolben [Langhals] nicht zum Herausschleudern von Probenmaterial und damit zu Substanzverlusten kommen kann.)

2. Quantitative Analyse[1] (KAMM, IWANTSCHEFF, KOCH und KOCH-DÉDIC)

2.1 Erläuterung und Schema der Methode

Die im Veraschungsgut vorliegenden Blei(II)-Ionen bilden vollständig bei pH > 7 mit Dithizon ein primäres rotes Dithizonat, das in Chloroform löslich ist.

$$Pb^{2+} + 2H_2Dz \rightleftharpoons Pb(HDz)_2 + 2H^+$$

Außer Blei reagieren noch eine Reihe anderer Elemente störend mit Dithizon. Bis auf Thallium und Wismut kann man sie durch Zugabe der Komplexbildner Citrat und Cyanid maskieren und nach einer extraktiven Titration[2] entfernen. Man behält die in Chloroform gelösten rot gefärbten Thallium-, Wismut- und Bleidithizonate übrig.

Da Thalliumdithizonat bei pH 7 in Tl^+ und Dithizon gespalten wird, kann es durch zweimaliges Schütteln mit bidestilliertem Wasser aus der Chloroform- in die wäßrige Phase extrahiert und verworfen werden.

Übrig bleiben jetzt nur noch die Blei- und Wismutdithizonate. Durch zweimaliges Schültteln mit Phtalatpuffer spaltet man alles Bleidithizonat in Pb^{2+} und Dithizon und bringt das Blei in die wäßrige Phase. Das Wismutdithizonat verbleibt in der Chloroformphase und wird verworfen.

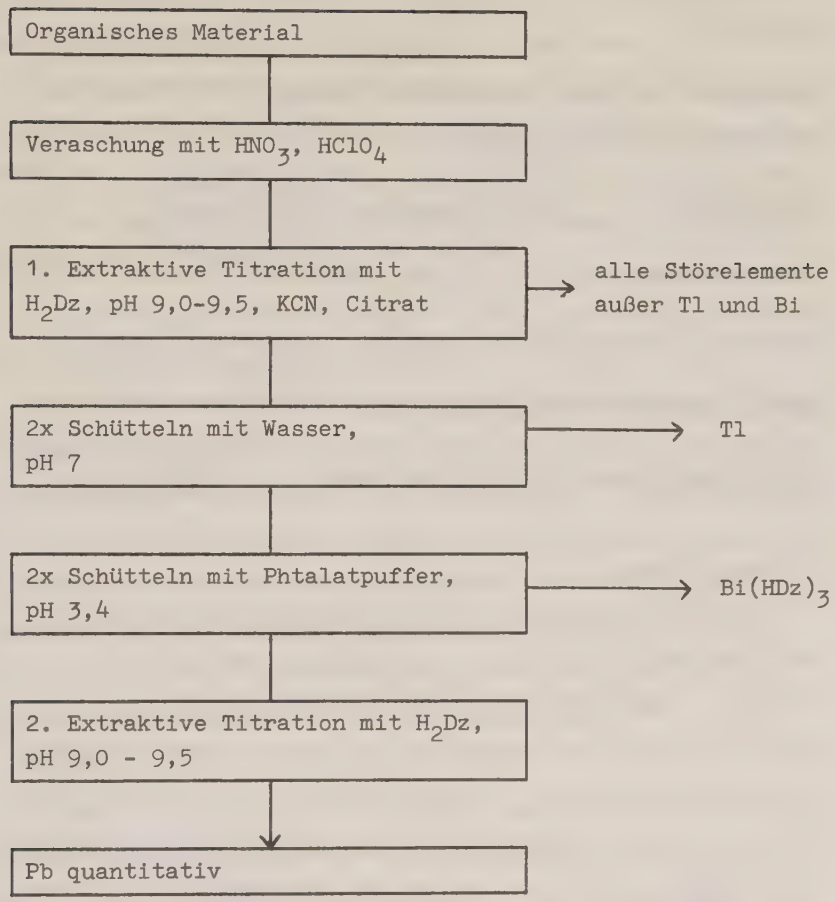
Nach Alkalisierung der wäßrigen Phase, in der jetzt als einziges Schwermetall nur noch Blei vorhanden ist, kann mit der zweiten extraktiven Titration mit Dithizonlösung begonnen werden. Nach kräftigem Schütteln bildet sich erdbeerrotes Bleidithizonat. Das Ende der Titration ist am Farbumschlag der

Chloroformphase nach blaurot bis blaugrün gut zu erkennen.[3)]

[1)] Anwendbar auf Vollblut, Urin, Faeces und, als Variation, auch auf Knochen.

[2)] Schon jetzt können Rückschlüsse auf den maximalen Bleigehalt der Probe gemacht werden. Bewegt dieser sich unterhalb des Gefährdungsbereiches, so kann der Analysengang abgebrochen und auf eine exakte Ermittlung des Ergebnisses verzichtet werden.

[3)] Bei guter Wetterlage (intensive Sonneneinstrahlung, blauer Himmel) kann sich dem Untersucher am Fenster das Titrationsende einer exakten Beurteilung entziehen. Für solche Fälle empfiehlt es sich, die farblichen Veränderungen bei der Titration vor einer weißen Fläche (Laborwand, Papier etc.) zu verfolgen. Dabei ist der Farbumschlag bei der zweiten Titration wesentlich besser zu sehen als bei der ersten.


Organisches Material
Veraschung mit HNO_3, $HClO_4$
1. Extraktive Titration mit H_2Dz, pH 9,0-9,5, KCN, Citrat
alle Störelemente außer Tl und Bi
2x Schütteln mit Wasser, pH 7
Tl
2x Schütteln mit Phtalatpuffer, pH 3,4
$Bi(HDz)_3$
2. Extraktive Titration mit H_2Dz, pH 9,0 - 9,5
Pb quantitativ

2.b Reagentien mit Herstellungsvorschriften

Salpetersäure z. A., d = 1,40 "mit Dithizon geprüft" oder "bleifrei"

Salzsäure 5N, durch Verdünnen mit Wasser 1 : 1 (Vol) aus Salzsäure z. A., d = 1,19

Chloroform z. A. "für Bestimmungen mit Dithizon"

Perchlorsäure z. A., d = 1,67

Hydroxylaminchlorhydrat z. A.

Natriumdiäthyldithiocarbamat z. A.

Diäthylammoniumdiäthyldithiocarbamat z. A. (DADDTC)

Dithizonlösung

Durch ein aschefreies Filter wird eine Lösung aus 0,1 g Dithizon und 30 ml Chloroform filtriert und mit 900 ml einer 0,5 proz. Ammoniaklösung ausgeschüttelt. Die Choroformschicht wird abgetrennt und verworfen (mit wenig reinem Chloroform nachschütteln!). Mit 10 proz. Salzsäure wird auf pH 7 eingestellt und das Dithizon wieder in Chloroform zurückgeschüttelt. Dazu benötigt man etwa 3 x 500 ml Chloroform. Die Dithizonlösung wird in einer mit einer Bürette verbundenen braunen Flasche im Kühlschrank bei $+4^{\circ}$ C im Dunkeln aufbewahrt[1)].

Kaliumcyanidlösung (10%), bleifrei

Eine Lösung aus 25 g Kaliumcyanid und 50 ml bidestilliertem Wasser wird hergestellt. Diese wird so oft mit wenig (ein

großer Überschuß ist nur sehr schwer wieder zu entfernen) Dithizonlösung geschüttelt, bis die Dithizonschicht grün bleibt. Das freie Dithizon wird durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform extrahiert. Mit bidestilliertem Wasser wird auf fast 250 ml aufgefüllt. Durch Erwärmen im Wasserbad wird alles Chloroform abdestilliert. Nach Abkühlen wird die Lösung auf exakt 250 ml aufgefüllt. Damit vielleicht vorhandenes Sulfid völlig zu Sulfit oxidiert ist, soll die Lösung vor Gebrauch mindestens zwei Tage altern.

Ammoniumcitratlösung (25%), bleifrei

Eine Lösung aus 62,5 g Diammoniumhydrogencitrat und 100 ml bidestilliertem Wasser wird mit etwa 75 ml Ammoniak (25%) gegen Lackmuspapier schwach alkalisch gemacht. Wie oben beschrieben, wird eventuell vorhandenes Blei mit Dithizon abgetrennt. Nach Ansäuern mit verdünnter Salzsäure wird durch mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform der Dithizonüberschuß entfernt. Sobald der letzte Chloroformanteil farblos bleibt, wird mit bidestilliertem Wasser auf 250 ml aufgefüllt.

Hydroxylaminhydrochloridlösung (20%), metallfrei

Eine Lösung aus 20 g Hydroxylaminchlorhydrat und 65 ml bidestilliertem Wasser wird mit Ammoniak bis zum Umschlag von m-Kresolpurpur nach Gelb versetzt. Nach Zugabe von 2 ml 1 proz. Natriumdiäthyldithiocarbamatlösung werden mit Chloroform die Metallcarbamate und der Überschuß an zugegebenem Carbamat selbst ausgeschüttelt und verworfen. Die Lösung wird mit verdünnter Kupferlösung geprüft. Ausbleibende Gelbfärbung zeigt die Entfernung des Carbamats an. Mit HCl wird bis zur Rosa-

färbung versetzt und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

Phtalat-Pufferlösung, pH 3,4, metallfrei

Lösung A

Eine Lösung aus 4,0844 g Kalium-hydrogenphtalat und 50 ml bidestilliertem Wasser wird zur Entfernung von Metallspuren mit 1 ml 1-proz. frisch bereiteter DADDTC-Lösung in Chloroform ausgeschüttelt, und zwar so oft, bis keine Gelbfärbung der organischen Phase mehr auftritt. Der Überschuß an Reagenz wird mit Chloroform wieder entfernt. Die Chloroformauszüge werden, wie oben angegeben, mit verdünnter Kupfersulfatlösung auf das Vorhandensein von überschüssigem Carbamat geprüft. Zu der Lösung werden dann 9,95 ml 0,2N Salzsäure gegeben und auf 100 ml mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt. Der pH des 0,2M Puffers soll jetzt bei 3,4 liegen. Wenn dies nicht der Fall ist, muß er entsprechend korrigiert werden.

Lösung B

9,1 ml konzentrierte Salpetersäure (d = 1,40) werden mit bidestilliertem Wasser auf 500 ml verdünnt. Mit Ammoniak (destilliert) wird exakt auf pH 3,4 eingestellt, mit 50 ml der Lösung A versetzt und auf 1000 ml aufgefüllt. Nur ein Teil davon (etwa 1/5 des Ansatzes) wird für anfallende Bleibestimmungen im Kühlschrank aufbewahrt. Der Rest wird in gut gereinigten 200 ml Kunststoffflaschen tiefgefroren. Er bleibt so lange Zeit haltbar.

[1] In den ersten Tagen ändert sich der Titer der Lösung noch etwas, danach nur noch unbedeutend, unter der Bedingung, daß nicht im prallen Sonnenlicht titriert wird und die Lösung jeweils nur für kurze Zeit dem Kühlschrank entnommen wird.

2.c Geräte

Squibb-Scheidetrichter mit abgeschrägtem Auslauf

Braunglasbürette mit 0,01 ml-Einteilung

2.d Arbeitsgang (für Vollblut, Urin und Faeces)

Der kristalline Rückstand im Kjeldahlkolben wird mit 10 ml bidestilliertem Wasser versetzt und aufgekocht. Die Lösung wird in einen Squibb-Trichter gegeben. In den Kjeldahlkolben füllt man 10 ml 5N HCl, erwärmt unter Umschwenken und gibt diese Lösung ebenfalls in den Scheidetrichter. Nach Zugabe von 15 ml Ammoniumcitratlösung und 1 ml Hydroxylaminlösung wird mit Ammoniak gegen Thymolblau neutralisiert. Darauf werden 5 ml KCN-Lösung zupipettiert und auf pH 9,0 - 9,5 eingestellt. Mit 0,2 - 0,5 ml-Portionen der Dithizonlösung erfolgt die 1. Titration. Dabei schüttelt man 30 Sek. kräftig durch, läßt absitzen und trennt die rot bis blaurot gefärbte Chloroformschicht so oft in ein sauberes Gefäß ab, bis sie grüngefärbt erscheint. Der Verbrauch an Dithizon wird vermerkt, noch einmal mit reinem Chloroform geschüttelt und die wäßrige Phase verworfen. Die organische Phase wird zweimal mit bidestilliertem Wasser geschüttelt und die wäßrigen Anteile verworfen. Dann wird die organische Phase zweimal mit je 10 ml der Pufferlösung pH 3,4 geschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden abgetrennt und vereinigt und mit 5 ml KCN-Lösung versetzt. Mit Hilfe der nun folgenden zweiten extraktiven Titration kann nun die zu bestimmende Bleimenge entweder direkt titrimetrisch, oder bei 520 nm nach der Mischfarbenmethode fotometrisch festgestellt werden.

2.e Titerkontrolle der Dithizonlösung

Zur Titerkontrolle der Dithizonlösung wird nach Untersuchung der Probe der im Scheidetrichter noch vorhandenen wäßrigen bleifreien Lösung eine bestimmte Menge Blei, z.B. 4, 6, ... µg Blei aus Titrisol-Bleistandardlösung (MERCK), zugesetzt und nach dem oben angegebenen Verfahren mit der Dithizon-Lösung titriert. Das Ergebnis wird mit der Eichkurve verglichen. Sollte sich dabei eine Abweichung ergeben, kann mit Hilfe eines zweiten Bleizusatzes die Steigung der Eichkurve (Titeränderung der Dithizon-Lösung) korrigiert werden.

Bei einer solchen Abweichung ist es dann möglich, mit einer korrigierten Eichgeraden den Blutbleigehalt festzulegen.

C Bleibestimmung durch fotometrische Dithizon-Methode (ENSSLIN und DREYER)

1. Veraschung

Auch hier wird die Vollblutprobe zur Eliminierung aller organischen Substanzen einer nassen Veraschung unterzogen. Das eventuell vorhandene Blei wird so neben anderen Stoffen im mineralischen Rückstand angereichert (demaskiert).

1.a Reagentien

HNO_3 konz. (d = 1,40) z.A.

H_2SO_4 konz. (d = 1,84) z.A.

$HClO_4$ konz. (d = 1,67) z.A.

1.b Geräte

Quarz-Kjeldahlkolben[1)], Langhals (200 mm), 100 ml Fassungsvermögen

Elektroheizschalen mit mehrstufiger oder besser thermostatisch regelbarer Heizung

1) Um dem Verfahren eine größere Sicherheit zu verleihen, wurde, wie bei dem Verfahren durch zweifache extraktive Titration (KAMM), ein Quarz-Kjeldahlkolben benutzt. Dies geschah unter Abweichung von der von ENSSLIN und DREYER angegebenen Veraschung in dem von einem Uhrglas bedeckten Becherglas, bei der in Vorversuchen ein gewisser Zeitvorteil (etwa 20 Minuten bei einer Probenmenge von 10 g) zu beobachten war. Es blieb jedoch unklar, ob es nicht durch die beim sehr heftigen Verdampfen zuweilen außen

am Becherglas herablaufenden Tropfen zu Substanzverlusten kam und mehr Säure zur Oxydation verbraucht würde für die Zerstörung der organischen Matrix.

1.c Arbeitsgang

In den Kjeldahlkolben werden zunächst 6 - 15 g Vollblut oder 25 ml Urin eingewogen und mit 10 ml HNO_3 und 2 ml H_2SO_4 langsam zum Sieden gebracht. Sobald es zur Ausscheidung dunkler Schlieren kommt, läßt man abkühlen[1]. Nach Zugabe von 4 ml $HClO_4$ wird wieder langsam erhitzt. Die überschüssigen Säuren werden abgeraucht[2]. Mit dem Verbleiben von weißer Asche im Kolben ist der Aufschluß von Vollblut beendet[3].

1) Wegen der bestehenden Explosionsgefahr sollte jetzt noch die Hauptmenge der anfangs zugegebenen Schwefelsäure vorhanden sein.

2) Wasserstrahlpumpe, bleifrei gemachtes gebogenes Glasrohr oder entsprechendes Quarzrohr.

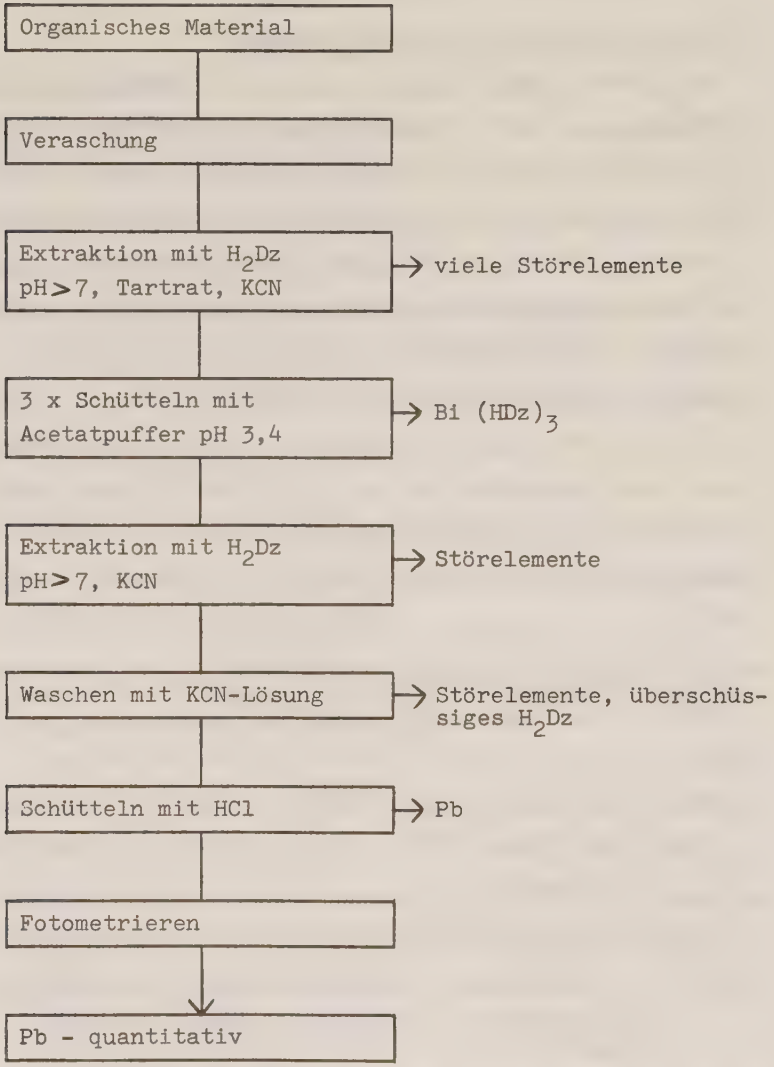
3) Urinproben sollten nicht bis zur vollkommenen Trockenheit verascht werden, da mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß sich dabei in heißer Salzsäure nicht lösliche Salze bilden, die einen Teil des Bleies einschließen und der Analyse entziehen können. Es ist also darauf zu achten, daß die Asche schwefelsäurefeucht bleibt.

2. Quantitative Analyse[1] (ENSSLIN und DREYER, IWANTSCHEFF, KOCH und KOCH-DÉDIC)

2.a Erläuterung und Schema der Methode

Bei pH >7 bilden Blei(II)-Ionen mit Dithizon ein primäres Dithizonat, das in Tetrachlorkohlenstoff löslich ist. Da außer Blei noch viele andere Elemente störend mit Dithizon reagieren, gilt es, diese durch geeignete Maßnahmen abzutrennen. Dies gelingt zunächst teilweise durch Zugabe des Maskierungsmittels Seignettesalzlösung (Kaliumnatriumtartrat) zu der gelösten Asche. Die noch verbleibenden Störelemente werden bei einem pH >7 mitsamt dem Blei mit Hilfe einer Dithizon-Tetrachlorkohlenstoff-Lösung extrahiert. Nach Einstellen auf pH 4,6 mit Azetatpuffer wandert das Blei in die wäßrige Phase. Die organische Dithizon-Tetrachlorkohlenstoff-Phase, die alles vorhandene Wismut enthält, wird verworfen. Wiederum wird ein pH >7 eingestellt und mit Dithizonlösung geschüttelt. Ein jetzt noch verbliebener geringer Anteil von Störelementen in der organischen Phase wird mit Hilfe von Kaliumcyanid-Lösung entfernt. Gleichzeitig wird überschüssiges Dithizon beseitigt. Es liegt jetzt also ein reines Blei-Dithizonat vor, das anschließend mit Salzsäure gespalten wird. Die Menge des jetzt noch vorhandenen Dithizons in der übrig gebliebenen Dithizon-Tetrachlorkohlenstoff-Lösung kann nun gegen reinen Tetrachlorkohlenstoff fotometrisch bei 570 oder 620 nm bestimmt werden und stellt einen exakten Parameter dar für die vorher daran gebundene Bleimenge (Kolorimetrie der Einfarbe; Reversionsverfahren).

1) Anwendbar auf Vollblut und Urin


Organisches Material
Veraschung
Extraktion mit H_2Dz pH>7, Tartrat, KCN
viele Störelemente
3 x Schütteln mit Acetatpuffer pH 3,4
$Bi(HDz)_3$
Extraktion mit H_2Dz pH>7, KCN
Störelemente
Waschen mit KCN-Lösung
Störelemente, überschüssiges H_2Dz
Schütteln mit HCl
Pb
Fotometrieren
Pb - quantitativ

2.b Reagentien mit Herstellungsvorschriften

Konz. Salzsäure 1 : 1 (Vol), durch Verdünnen mit aqua bidest. aus Salzsäure z.A., d = 1,19

Ammoniumhydroxid 1 : 1 (Vol), durch Verdünnen mit aqua bidest. aus Ammoniumhydroxid z.A., 25%, d = 0,91

Kaliumcyanidlösung 10%, durch Lösen von 10 g KCN z.A. in 100 ml aqua bidest.

Kaliumcyanidlösung 0,5%, durch Verdünnen der 10 proz. KCN-Lösung mit aqua bidest. 1 : 19

Kaliumnatriumtartratlösung, durch Lösen von 20 g in 100 ml aqua bidest.

Hydroxylammoniumchloridlösung, durch Lösen von 20 g in 100 ml aqua bidest.

Natriumazetat-Puffer 0,1N, pH 4,6,

13,6 g Natriumazetat. 3 aq z.A. werden in bidestilliertem Wasser gelöst. Nach Zugabe von 6,0 ml Eisessig z.A. wird auf 1 l aufgefüllt.

Tetrachlorkohlenstoff z.A. oder "für Bestimmungen mit Dithizon",

1 l wird nach Zugabe einer Spatelspitze Dithizon mindestens 12 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen und dann durch langsames Abdestillieren (mit bleifrei gemachtem Gerät) gereinigt.

Dithizonlösung[1],

Eine Lösung aus etwa 12 - 15 mg Dithizon und 100 ml CCl_4 wird nach Stehenlassen über Nacht mit 50 ml bidestilliertem Wasser und 5 ml Ammoniumhydroxidlösung im Scheidetrichter geschüttelt. Die gelbliche CCl_4-Phase wird verworfen. Die rote wäßrige Lösung wird mit 100 ml CCl_4 und 15 ml HCl (1 : 1) durchgeschüttelt. Die grüne Dithizon-lösung wird abgetrennt und 2 bis 3 mal mit etwa je 100 ml Wasser gewaschen.

[1] Diese Dithizonlösung ist täglich frisch herzustellen. Sie soll nicht dem direkten Tageslicht ausgesetzt werden (durch die Einwirkung von UV-Strahlen entsteht Phosgen; außerdem wird das Dithizon zerstört). In einer dunklen Glasflasche kann sie im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt werden.

2.c Geräte

Squibb-Scheidetrichter, 250 ml Fassungsvermögen, mit kurzem, abgeschrägten Ablaufrohr

Filter-Fotometer mit Filtern im Bereich von 570 bis 620 nm

Küvette, 20 mm Schichtdicke

2.d Arbeitsgang (für Vollblut[1])

Die weiße Aschenkruste im Aufschluß-Kolben wird mit 5 ml HCl (1 : 1) versetzt, durch Erhitzen bis zum Siedepunkt und Umschwenken gelöst und fünf Minuten heiß stehen gelassen. Dann gibt man zu der salzsauren Aschelösung 5 ml der Kaliumnatriumtartratlösung und 2 ml der Hydroxylaminlösung (zur Verhinderung einer Oxidation des Dithizons durch $(Fe(CN)_6)^{3-}$). Dann wird das Gemisch der Lösungen mit Ammoniumhydroxid (1 : 1) schwach alkalisch gemacht[3]. Nach Zusatz von 5 ml 10-proz. Kaliumcyanidlösung erwärmt man bis auf etwa 60° C und spült die abgekühlte Lösung vollständig in einen Scheidetrichter und schüttelt intensiv ca. zwei Minuten lang mit 3 bis 4 ml der Dithizonlösung aus[4]. Die rote Dithizonlösung wird in einen zweiten Scheidetrichter, beschickt mit 10 ml der Azetatpufferlösung, abgelassen[5] und die verbleibende wäßrige Phase mit weiteren Dithizonportionen von etwa 3 ml geschüttelt. Die Extrakte werden im zweiten Scheidetrichter gesammelt, bis die Dithizonschicht nach zweiminütigem Schütteln grün bleibt. Dieser letzte Extrakt wird noch mit den anderen vereinigt und die wäßrige Phase verworfen. Nun wird der zweite Scheidetrichter zwei Minuten geschüttelt. Die jetzt grüne CCl_4-Phase wird in einen dritten und nach neuerlicher Extraktion in einen vierten Scheidetrichter mit je 10 ml der Pufferlösung abgelassen. Nach der dritten Extraktion wird die CCl_4-Schicht verworfen und die wäßrigen Phasen, die jetzt das gesamte vorhandene Blei enthalten, unter gründlichem Nachspülen mit ionenfreiem Wasser im zweiten Scheidetrichter vereinigt. Dann

versetzt man mit je 1,5 ml der halbkonzentrierten Ammoniumhydroxid-Lösung und der 10-proz. Kaliumcyanid-Lösung. Wie oben beschrieben, wird das Blei wiederum portionsweise mit Dithizon in Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit CCl_4 auf exakt 20 ml aufgefüllt und mit 5 ml der 0,5-proz. Kaliumcyanid-Lösung etwa 20 Sekunden geschüttelt. Die überstehende, zu verwerfende Lösung ist zunächst bräunlich gefärbt, wird aber mit weiteren KCN-Waschungen farblos. Die CCl_4-Phase wird mit einigen Tropfen der Hydroxylammoniumchlorid-Lösung und 2 ml Salzsäure (1 : 1) versetzt und geschüttelt. Die Dithizon-Phase wird durch ein trockenes Faltenfilter in eine Küvette filtriert und die Extinktion bei 570 oder 620 nm gegen reinen CCl_4 gemessen[6].

[1] Veraschte Urinproben werden mit bidestilliertem Wasser gelöst und mit Weinsäurelösung anstelle von Tartrat versetzt. Ansonsten verfährt man wie bei der Blutasche.

[2] Noch besser hat sich ein pH-Meter bewährt, das allerdings von Bleispuren befreit sein muß.

[3] Dazu benötigt man etwa 7 ml der Ammoniak-Lösung, Tüpfeln mit pH-Papier.

[4] Der entstehende Überdruck sollte mehrfach durch vorsichtiges Lösen des Stopfens ausgeglichen werden, um Substanzverluste durch Herauspressen an Küken oder Stopfen zu vermeiden.

[5] Zur Vermeidung von Bleiverlusten empfiehlt es sich,

das Ablaufrohr mit etwas reinem Tetrachlorkohlenstoff, der in den Scheidetrichter gegeben wird, zu spülen.

6) Zur Kontrolle des Ergebnisses wird ein Blindwert parallel zu der Probe dem gesamten Arbeitsgang einschließlich Veraschung unterworfen.

D Vorbereitende Maßnahmen

Um zu repräsentativen Ergebnissen zu kommen, ist es für die Spurenanalyse von großer Bedeutung, daß vorbereitende Maßnahmen getroffen werden, die weitgehend alle exogenen Faktoren eliminieren, welche sich störend und verfälschend auf das Resultat auswirken könnten.

So wurde darauf geachtet, daß in dem Laboratorium während der gesamten Versuchsdauer neben Bleianalysen keine weiteren Arbeiten mit Metallen verrichtet wurden. Alle Glasgeräte und Gefäße wurden zunächst mit Dithizon-Lösung bleifrei gemacht und dann mit warmer halbkonzentrierter Salpetersäure (z.A.) und schließlich mehrfach mit bidestilliertem Wasser gespült. Längeres Offenstehen der Fenster oder der Eingangstüre wurde vermieden. Um ein Eindringen von Straßenstaub zu verhindern, wurden die Schuhe gewechselt. Auch wurde auf die regelmäßige Reinigung der Laborkittel größter Wert gelegt.

E Eichkurven

Zur Erstellung der Eichkurven wurden wäßrige Lösungen aus der Stammlösung "Pb-Titrisol" (MERCK) hergestellt, die in 10 ml folgende Mengen Blei enthielten:

4 µg,

6 µg,

8 µg,

10 µg.

Für beide Verfahren wurde jede Lösung jeweils fünfmal dem gesamten Analysengang unterworfen und der Mittelwert der Ergebnisse berechnet (Methode KAMM: ml Dithizon bei der zweiten Titration; Methode ENSSLIN und DREYER: Extinktion).

Die einzelnen Werte wurden gegen die entsprechenden Bleigehalte der Lösungen aufgetragen. Die Eichkurven waren Geraden, die beide durch den Nullpunkt liefen.

Lfd. Nr.	Pb-Menge µg/10 ml	Verbrauch Dith.-Lösung ml
1	4	0,37
2	6	0,50
3	8	0,70
4	10	0,90

Tab. 1 Meßergebnisse für die Erstellung der Eichkurve mittels der Titration mit Dithizon (KAMM)

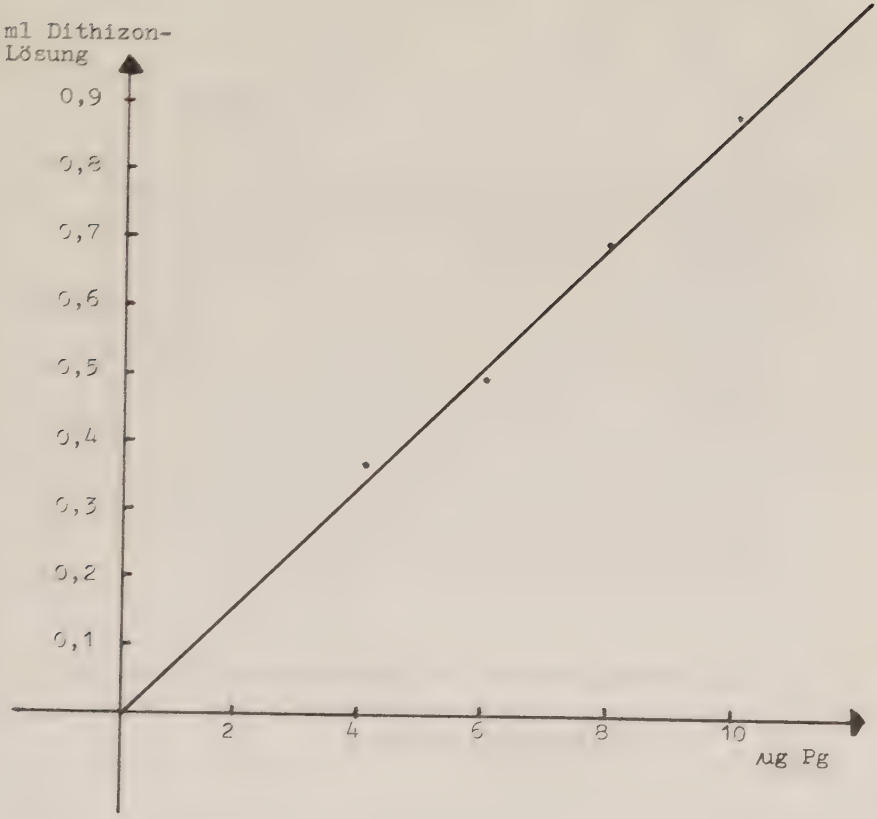


Abb. 1 Eichkurve für Bleibestimmung
Titrations-Methode (KAMM)

Lfd. Nr.	Pb-Menge µg/10 ml	Transmission %	Extinktion
1	4	85,25	0,072
2	6	78,20	0,109
3	8	74,20	0,132
4	10	67,00	0,174

Tab. 2 Meßergebnisse für die Erstellung der Eichkurve mittels der Fotometrie (bei 578 nm) nach ENSSLIN und DREYER

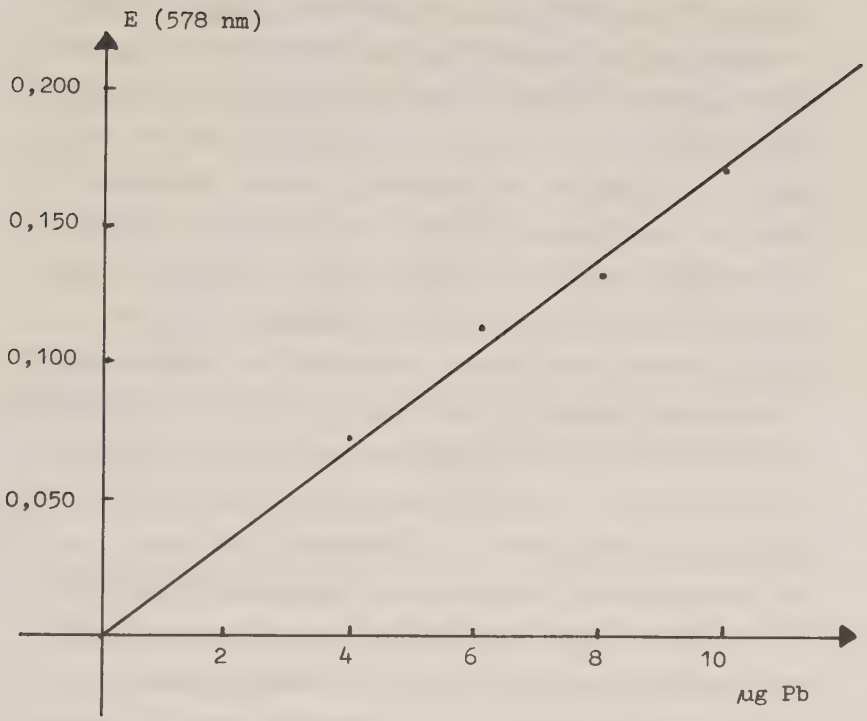


Abb. 2 Eichkurve für Bleibestimmung
Fotometrie-Methode (ENSSLIN und DREYER)

F Herstellen der bleihaltigen Blutproben

Von der Blutbank in Marburg wurden zwei Blutkonserven von jeweils annähernd 500 ml Vollblut zur Verfügung gestellt. Diese wurden in einer größeren Kunststoffflasche vereinigt und mit bidestilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Mit Hilfe der beiden zu vergleichenden Methoden wurden jeweils fünf Analysen durchgeführt und ein Bleigehalt von 15,9 µg/100 ml ermittelt. Da dies ein normaler Wert ist, die Bleianalyse aber erst Bedeutung erlangt im Gefährdungs- bzw. im toxischen Bereich (also von 20 µg/100 ml an aufwärts), mußte dem Blutgemisch noch Blei zugesetzt werden. Dazu wurde es zunächst im Tiefkühlschrank (niedrigste Temperatureinstellung!) über Nacht durch Tiefgefrieren hämolysiert und anschließend nach dem Auftauen mit 300 µg Blei[1)] versetzt und intensiv durchmischt. Die Blutproben mußten jetzt also annähernd 50 µg Blei pro 100 ml enthalten. Es wurde somit bewußt ein Gesamt-Bleigehalt gewählt, der sich noch im unteren Gefährdungsbereich bewegt, da bei geringeren zu analysierenden Bleimengen höhere Ansprüche an die Methoden gestellt werden.

1) Herstellung durch Verdünnen der Stammlösung "Pb-Titrisol" (MERCK)

G Hauptversuche

Nach Erstellen der Eichkurven und Herstellen der bleihaltigen Blutproben wurden die beiden zur Diskussion stehenden Verfahren bei jeweils zwanzig Proben à zehn ml zur Anwendung gebracht. Für die Versuchsreihen ergaben sich die in den folgenden Tabellen zusammengefaßten Werte.

Probe Nr.	Blut/ g	1. Titration Verbrauch Dith.-Lsg/ml	2. Titration Verbrauch Dith.-Lsg/ ml				Summe/ ml	Blei/ µg
1	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
2	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
3	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,03	0,43	4,90
4	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,02	0,42	4,75
5	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
6	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,03	0,43	4,9
7	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
8	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
9	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,05	0,45	5,1
10	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,02	0,42	4,75
11	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,02	0,42	4,75
12	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,03	0,43	4,9
13	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
14	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,05	0,45	5,1
15	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
16	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
17	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,03	0,43	4,9
18	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55
19	10	0,7	0,3	0,05	0,05	0,02	0,42	4,75
20	10	0,7	0,3	0,05	0,05		0,4	4,55

Tab. 3 Ergebnisse der Bleibestimmung durch Titration (KAMM)

Probe Nr.	Blut/g	Transmission/%	Extinktion	Blei/µg
1	10	84,0	0,076	4,3
2	10	86,25	0,0635	3,6
3	10	82,75	0,083	4,7
4	10	80,25	0,095	5,35
5	10	80,75	0,093	5,25
6	10	83,5	0,078	4,4
7	10	83,00	0,081	4,6
8	10	82,00	0,086	4,8
9	10	80,50	0,094	5,3
10	10	81,5	0,089	5,05
11	10	86.0	0,066	3,75
12	10	81,75	0,088	5,0
13	10	84,5	0,073	4,15
14	10	83,25	0,080	4,55
15	10	80,5	0,094	5,3
16	10	80,25	0,095	5,35
17	10	83,25	0,080	4,55
18	10	81,5	0,089	5,05
19	10	84,0	0,076	4,3
20	10	86,5	0,0635	3,6

Tab. 4 Ergebnisse der Bleibestimmung durch Fotometrie ENSSLIN und DREYER)

H Statistische Auswertung

Extraktive Titration mit Dithizon (KAMM):

Mittelwert:	4,71
Standardabweichung:	0,193

Fotometrische Bestimmung mit Dithizon (ENSSLIN und DREYER):

Mittelwert:	4,65
Standardabweichung:	0,573

Der F-Test für den Vergleich der beiden Varianzen ergibt ein F = 8,7901. Das zeigt eine statistische Abweichung beider Varianzen (Standardabweichung) für ein $p < 0,01$, während der Vergleich der Mittelwerte unter Berücksichtigung der statistisch sich unterscheidenden Varianzen mittels des T-Tests für den Vergleich zweier unabhängiger Mittelwerte (Korrektur nach WELCH) für T = 0,498803 ein $p > 0,6$ ergibt, d.h. ein Unterschied der Mittelwerte ist, wie zu erwarten, nicht nachweisbar.

I Diskussion

Der große Vorteil der beiden untersuchten Dithizon-Methoden gegenüber anderen Verfahren liegt in dem geringen benötigten apparativen Aufwand, wobei die Bestimmung durch direkte extraktive Titration (KAMM) mit den geringsten Hilfsmitteln auskommt. Allerdings ist hier zu beachten, daß sie im Falle einer Rot-Grün-Fehlsichtigkeit des Untersuchers nicht anwendbar ist (Farbumschlag von Erdbeerrot nach Blaurot bei der Titration).

Es ergibt sich ein vergleichbarer Zeitbedarf beider Methoden zur Durchführung von jeweils fünf Bestimmungen von insgesamt 5 1/2 Stunden (Veraschung 3 1/2 Std.) bei der Titrationsmethode, beziehungsweise 6 1/2 Stunden (Veraschung 4 Std.) bei der fotometrischen Methode. In den genannten Zeiten sind allerdings alle "Nebenarbeiten" wie Materialbeschaffung, Reinigen der benutzten Geräte u.s.w. enthalten.

Beide Methoden sind hinreichend zuverlässig bezüglich ihrer Nachweisgrenze und Reproduzierbarkeit. Auf Grund der niedrigeren Standardabweichung (0,193 zu 0,573) und der geringeren Variabilität der Meßwerte wird aus statistischer Sicht ein Vorteil bei der Methode nach KAMM gesehen.

Beide untersuchte Methoden zeigen eine nur äußerst geringe Querempfindlichkeit gegenüber Wismut und Thallium. Da Wismut in zahlreichen z.T. rezeptfreien "Magen- und Darmpräparaten" enthalten ist und die Selbstmedikation bei "Verdauungsstörung" allgemein sehr hoch und nur schwer kon-

trollierbar ist, muß mit seinem störenden Vorhandensein stets gerechnet werden. Bei der Titration störte Wismut bis zur 500fachen Menge nicht, wohingegen bei der fotometrischen Methode Wismut nur bis zur 10fachen Menge des vorhandenen Bleies eliminiert wird. Größere Wismutmengen geben sich allerdings durch eine im Extrakt ins Orange verschobene Färbung zu erkennen und können dann durch eine vermehrte Zahl von Waschungen mit verdünnter Kaliumcyanidlösung entfernt werden.

Ein wesentlicher Nachteil der Methode nach ENSSLIN und DREYER liegt bei der Gefährdung des Untersuchers durch das toxische Lösungsmittel Tetrachlorkohlenstoff. So beurteilt die Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft in ihrer MAK-Werte-Liste (Maximale Arbeitsplatzkonzentration für achtstündige Arbeitszeit) die Toxizität von Tetrachlorkohlenstoff größer als die von Chloroform:

MAK für CCl_4 : 10 vpm oder 65 mg/m^3
MAK für $CHCl_3$: 50 vpm oder 240 mg/m^3

Leichte Vorteile ergeben sich bezüglich der praktischen Durchführung für die Methode nach ENSSLIN und DREYER. Insbesondere der letzte Schritt, das Fotometrieren, ist im Hinblick auf eine mögliche falsche Handhabung durch den Laboranten sicherer als die zweifache Titration bei der Methode nach KAMM.

J Zusammenfassung

Insbesondere kleineren Laboratorien werden mit den beiden besprochenen Dithizon-Methoden zwei Möglichkeiten der Bleibestimmung in biologischem Material an die Hand gegeben, die den Forderungen nach ausreichender Spezifität und Reproduzierbarkeit genügen. Die beiden Methoden können als gleichwertig angesehen werden. Sie kommen ohne größeren apparativen Aufwand aus und sind auch von Ungeübten nach kurzer Einarbeitung leicht durchzuführen.

K Literaturverzeichnis

BEATTIE, A.D.: Role of chronic low-level lead esposure in the aetiologie of mental retardation. Lancet, 1975/I, 589

BORNEFF, J.: Hygiene, Stuttgart 1975, Georg Thieme Verlag

DILLON, H.K.: Lead concentrations in human milk. Am. J. Dis. Child 4, 1974, 491

ENSSLIN, F. u. H. DREYER: Die Anwendung des Dithizons bei der Bleibestimmung. Erzmetall XIV, 1961, 388

GIBSON, S.L.N. et al.: Blood lead level in normal and mentally deficient children. Arch. Dis. Childh. 42, 1967, 573

GOLDSMITH, J.R.: Epidemiological basis for possible air quality criteria for lead. J. Air Poll. Constr. Ass. 9, 1969, 714

HAAS, Th., K.H. SCHALLER u. H. VALENTIN: Gefährdung der Umwelt durch Blei und seine Verbindungen. Dt. Ärzteblatt 26, 1972, 1803

HOWER, J. et al.: Deutsche Med. Wochenschr. 10, 1975, 461

IWANTSCHEFF, G.: Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse, Verlag Chemie 2, 1971

JECKLIN, L.: Untersuchungen über den Bleigehalt der Auspuffgase beim Benzinmotor. Int. Arch. Gewebepath. Gewebehyg. 14, 1956, 626

KAMM, G.: Bleibestimmung in biologischem Material durch zweifache direkte Titration mit Dithizon. Z. klin. Chemie u. klin. Biochemie 6, 1968, 182

KEHOE, R.A.: Present hygienic problems relating to the absorption of lead.
J. Royal Inst. Publ. Hlth. Hyg. 24, 1961, 177

KETTNER, H. et al.: Die Bleideposition aus der atmosphärischen Luft.
Fortschr. Med. 89, 1971, 179

KLOKE, A.: Schwermetalle in Nahrungs- und Futterpflanzen.
Deutsche Lebensmittel Rundschau 69, 1973, 45

KOHAYASHI, Y., M. HORI u. K. TSUCHIYA: Die Verteilung von Blei in der Luft in der Nähe von Autostraßen.
Keio J. Med. 19, 1970, 183

KOCH, O.G. und G.A. KOCH-DÉDIC: Handbuch der Spurenanalyse, Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York, Springer Verlag 1964

LANE et al.: Diagnosis of Inorganic Lead Poisoning: A Statement.
Br. Med. J. 1968, 501

LEHNERT, G.: Bleibenzin - ein ökologisches Gift?
Arch. Hyg. 152, 1968 , 559

LEHNERT, G., G. STADELMANN, K.H. SCHALLER u. D. SZODOVOSKI: Usuelle Bleibelastung durch Nahrungsmittel und Getränke.
Arch. Hyg. 153, 1969, 403

LIN-Fu, J.S.: Vulnerability of Children to lead exposure and toxicity.
New Engl. J. Med. 289, 1973, 229

REIF, E.: Untersuchungen an Bleiarbeitern einer hessischen Akkumulatorenfabrik.
Öff. Gesundheitswesen 36, 1974, 787

SCHMIDT, D., B. SANSONI, W. KRACKE, F. DIETL, M. BANCHINGER u. W.STICH: Die Bleibelastung der Münchner Verkehrspolizei.
Münch. med. Wschr. 114, 1972, 1761

SCHMIDT, D. u. W. STICH: Diagnostische Kriterien erhöhter Bleiaufnahme.
Münch. med. Wschr. 115, 1973, 103

STOMPFE, G.: Über die Bleikontamination von Obst, gezeigt am Beispiel des Apfels und seiner Verarbeitungsprodukte.
Inaug. Diss. Marburg 1973

BUNDESMINISTER FÜR ARBEIT U. SOZIALORDNUNG: Unfallverhütungsbericht
Bonn 1976

ZARKOVSKY, H.: Chronic low-level lead exposure and mental retardation.
Lancet 1, 1975, 1087

ZIT. nach: Br. Med. J. 3, 1974, 761

ZIT. nach: Med. J. Aust. 1, 1974, 1023

Herrn Professor Dr. med. R. Hilgermann danke ich für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dipl. Chemiker G. Kamm für seine Hilfe während der praktischen Arbeit in der toxikologischen Abteilung des Institutes und für die Beratung bei der Abfassung der Dissertation.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:
Ahrens, Amon, Baltzer, Bernhardt, Bideler, Bode, Castenholz, Dimroth, Fruhstorfer, Haberich, Hennis, Hensel, Hering, Heubel, Heuser, Hilgermann, Janke, Karlson, Kleinsasser, Koch, Koecke, Lauer, Lorenz, Ludwig, Maroske, Nötz, Perst, Petry, Richter, Rohen, Rupec, Schienbein, Schiff, Schmidt, Schmitz-Moormann, Schneider, Schnell, Scribra, Seidel, Walcher.

Lebenslauf

Am 3. Januar 1948 wurde ich als Sohn des Zahnarztes Dr. Hans Gröppel und seiner Ehefrau Irene geb. Born, in Gehrden geboren.
Ostern 1954 wurde ich in Gehrden eingeschult. Ab April 1958 besuchte ich die Realschule in Peckelsheim und ab 1960 das Gymnasium in Brakel, wo ich am 30. Mai 1968 das Abitur bestand.
Im Wintersemester 1968/1969 studierte ich Physik, Chemie und Zoologie an der Universität Marburg.
Anschließend folgte bis zum 15. Oktober 1971 eine Wartezeit (keine Zulassung zum Studium der Zahnmedizin), die ich mit Beschäftigung im zahntechnischen Labor, in der zahnärztlichen Praxis meines Vaters und im Kreiskrankenhaus in Peckelsheim überbrückte.
Zum Wintersemester 1971/72 schrieb ich mich an der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg ein. Das Vorphysikum bestand ich im September 1972, die zahnärztliche Vorprüfung im März 1974 und das Staatsexamen am 20. Dezember 1976. Ich studierte alle Semester in Marburg.
Als Assistenzzahnarzt bin ich zur Zeit in der Praxis meines Vaters in Willebadessen-Peckelsheim beschäftigt.
Seit dem 4. Dezember 1970 bin ich mit Dorothea Gröppel, geb. Bammel, verheiratet. Wir haben drei Kinder.